过瘤胃蛋氨酸对奶牛瘤胃微生物蛋白产量、产奶性能和氮排泄的影响

张成喜[1] 孙友德[2] 刘锡武[2] 孙国强[1*]

（1.青岛农业大学动物科技学院，青岛 266109；2.青岛市畜牧兽医研究所，青岛 266100）

摘 要：本试验旨在研究过瘤胃蛋氨酸（RPMet）对奶牛瘤胃微生物蛋白（MCP）产量、产奶性能及氮排泄的影响。选取年龄、体重、胎次、产奶量、乳成分及泌乳期[（90±15） d]相近的荷斯坦奶牛 40 头，随机分为 4 组，每组 10 头，对照组和试验 1 组、2 组、3 组分别添加 0、15、25 和 35 g/(d 头) RPMet。预试期 15 d，正试期 60 d。结果表明：1）各试验组瘤胃 MCP 的产量均极显著高于对照组（P<0.01），试验 1 组、2 组、3 组分别比对照组提高了 13.10%、20.45%、16.23%。2）试验组产奶量显著或极显著高于对照组（P<0.05 或 P<0.01），试验 1 组、2 组、3 组分别比对照组提高了 8.12%、13.32%、10.32%；RPMet 能显著或极显著提高乳脂率和乳蛋白率（P<0.05 或 P<0.01），显著或极显著降低了乳体细胞数（P<0.05 或 P<0.01），以试验 2 组最低。3）在氮总排出量方面，各试验组均极显著低于对照组（P<0.01），试验 1 组、2 组、3 组分别比对照组降低了 8.55%、17.49%、13.25%。由此可知，在本试验条件下，饲粮中添加 RPMet 可以显著提高奶牛瘤胃 MCP 产量，减少氮排泄，提高奶牛生产性能，综合各项试验指标，RPMet 的最适添加量为 25 g/(d 头)。

关键词：过瘤胃蛋氨酸；瘤胃微生物蛋白；产奶性能；氮排泄

中图分类号：S816.7

近年来，随着我国奶牛养殖业集约化规模化程度的提高，饲养成本和环境污染等问题成为制约我国奶牛养殖业持续发展的重要因素。在反刍动物养殖过程中，蛋白质类饲料原料的缺乏以及利用率偏低成为影响反刍动物生产的主要因素[1]。如何在实际生产中，提高奶牛对蛋白质饲料的利用率、降低饲养成本、减少氮排泄对整个奶牛养殖业的发展具有十分重要的意义。氨基酸营养作为反刍动物蛋白质营养的实质和核心[2]，可以通过补饲氨基酸的方式，来提高奶牛氮素利用率，降低氮排泄。蛋氨酸作为反刍动物的第一或第二限制性氨基酸，对于高产奶牛显得尤其重要[3]，可采用补饲方法缓解其蛋氨酸营养不足的问题。为防止蛋氨酸在瘤胃中降解，可在添加前进行物理或化学方法修饰等保护性处理，使其过瘤胃消化吸收[4]。

收稿日期：2016-10-25

基金项目：山东省现代农业产业技术体系牛产业创新团队项目（SDAIT-09-08）

作者简介：张成喜(1988-)，男，山东临沂人，硕士研究生，研究方向为反刍动物营养。E-mail: zcares@126.com

*通信作者：孙国强，教授，硕士生导师，E-mail: qdnydxsgq@126.com

邹阿玲等[5]研究发现，在奶牛饲粮中添加过瘤胃蛋氨酸（rumen-protected methionine，RPMet）不仅可以显著提高泌乳早期奶牛的产奶量、乳蛋白率和牛奶比重，还能够提高乳脂率和乳中非脂固形物的含量。燕磊[6]在小尾寒羊氨基酸代谢的研究中指出，饲粮中添加 RPMet 可以降低尿中尿素氮排出量、尿素氮/进食氮以及尿氮排出量，提高饲料中氮的沉积量以及氮的生物学价值。Salsbury 等[7]通过体外试验研究表明，蛋氨酸和蛋氨酸羟基类似物（MHA）可以加速微生物的生长。韩占强等[8]研究不同 RPMet 对奶牛 pH 和氨态氮（NH_3-N）的影响时指出，在奶牛饲粮中添加 30 g/(d 头)棕榈油包被的蛋氨酸，可以满足瘤胃微生物对蛋氨酸的需要，提高了对 NH_3-N 的利用率，促使瘤胃中 MCP 的合成。目前，RPMet 在奶牛方面的研究主要集中在产奶量上，对饲粮中添加 RPMet 能否增加瘤胃中微生物蛋白(MCP)产量、降低氮排泄的研究报道较少，且结果不一致。本试验在奶牛饲粮中添加不同水平的 RPMet，探讨 RPMet 对奶牛瘤胃 MCP 产量、产奶性能以及氮排泄的影响，以期提高奶牛对蛋白质饲料的利用率和产奶性能，降低奶牛饲养成本和氮排泄，为我国奶牛养殖业的可持续发展提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 RPMet

RPMet 购自青岛润博特生物科技有限公司，为白色颗粒状物质，原料组成为 *DL*-蛋氨酸、棕榈油、二氧化硅，其中 *DL*-蛋氨酸≥60%，水分≤12%。

1.2 试验设计

本试验采用单因素随机区组设计，挑选青岛奥特奶牛良种场年龄、体重、胎次、产奶量、乳成分以及泌乳期[（90±15） d]相近的荷斯坦奶牛 40 头，随机分为 4 组，每组 10 头。对照组和试验 1 组、2 组、3 组分别补饲 0、15、25 和 35 g/(d 头) RPMet。每头奶牛每天预留 0.5 kg 精料将其作为载体与 RPMet 混合，剩余的精料与粗饲料混匀后制成全混合日粮（TMR），RPMet 与精料混匀后随 TMR 饲喂，TMR 组成及其营养水平见表 1。

试验期为 75 d，其中预试期为 15 d，正试期为 60 d。采用舍饲，试验牛每天使用利拉伐挤奶器挤奶 2 次（04:00、16:00），每天饲喂 TMR 2 次（04:30、16:30），并且确保奶牛每天有 20 h 以上时间能够接触到 TMR。试验牛饲喂后能够在运动场自由饮水和运动，按照常规对其进行驱虫、光照和管理。

表 1　TMR 组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the TMR (DM basis)　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	19.30
麦麸 Wheat bran	2.34
豆粕 Soybean meal	6.53
玉米干酒糟及其可溶物 Corn DDGS	2.18
大豆皮 Soybean hull	3.95
全棉籽 Whole cottonseed	3.47
花生秧 Peanut hay	3.54
全株玉米青贮 Whole-plant corn silage	27.61
啤酒糟 Brewer`s grains	7.42
苜蓿草 Alfalfa hay	14.77
燕麦草 Oat hay	5.63
脂肪酸钙 Calcium soap of fatty acid	0.36
食盐 NaCl	0.36
小苏打 $NaHCO_3$	0.36
预混料 Premix[1)]	1.82
生物脱霉素 Biological mycotoxin removement agent	0.36
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
粗蛋白质 CP	15.94
产奶净能 NE_L/(MJ/kg)	6.88
中性洗涤纤维 NDF	45.60
酸性洗涤纤维 ADF	21.68
钙 Ca	0.80
磷 P	0.38

[1)] 每千克预混料含 One kg of premix contained the following:VA 800 000 IU,VD_3 400 000 IU,VE 3 000 IU,Fe 2 000 mg,Cu 1 500 mg,Zn 1 200 mg,Mn 3 500 mg,I 100 mg,Se 50 mg,Co 50 mg。

[2)] 产奶净能通过计算得出，为各原料的产奶净能[9]与其所占的百分比相乘，然后相加；其余营养水平为实测值[10]。NE_L was a calculated value, which was the sum of NE_L of different ingredients[9] multiplied by their percentages; while the other nutrient levels were measured values[10].

1.3　试样采集及处理

1.3.1　饲料样

使用四分法收集 TMR 样，并在 65 ℃烘箱中烘干制成风干样，粉碎后备用。

1.3.2　粪样

预试期第 1～3 天，正试期第 28～30 天，正试期第 58～60 天时使用全收粪法采集 3 次粪样，连续 3 d 进行 24 h 全收粪，每组收集 10 头试验牛的全部粪样。收粪前应先将牛床冲洗干净，并及时将粪便收集起来，每天将收集的粪便混匀并称重，称重前先使用四分法收集当天的粪便，按每 100 g 粪便添加 25 mL 10%的硫酸，对其进行固氮处理，然后放入－20 ℃冰箱中冷冻保存，采样期最后 1 d 将 3 d 内所留的粪样按照样重比例均匀混合，然后将其放入 65 ℃烘箱中烘至恒重保存，用于测定粪中氮含量。

1.3.3　尿样

预试期第 1～3 天，正试期第 28～30 天，正试期第 58～60 天时收集 3 次尿样，参考朱雯[11]点收尿法采样，每次采样时使用人工接尿结合膀胱取尿的方式进行采样，先使用颈夹将牛固定，再采取膀胱取尿的方式将导管插到膀胱中依次采集每头牛的尿样，如果在采集过程中有牛出现自主排尿，则由其他人员负责接尿，每天收集 2 次尿样，每隔 12 h 采集 1 次，连续采集 3 d。每天采集尿样的时间在前 1 天的基础上延后 4 h，收集的尿液按一定比例添加 98%的浓硫酸，调节 pH(pH<3)，最后放入－20 ℃冰箱冷冻保存。

1.3.4　乳样

分别在预试期第 1 天和正试期每隔 15 d 收集乳样，按照早、晚产奶量的比例进行收集，共收集 65 mL，其中 50 mL 乳样需添加重铬酸钾防腐剂（0.6 mg/mL），混合均匀后放入 4 ℃冰箱中冷藏用于测定乳成分，剩余 15 mL 乳样经过 1 500×*g* 离心 10 min 处理后，取 4 mL 离心样，并向其中加入等体积（4 mL）的三氯乙酸（TCA）（25%），静置 5 min 后于 3 500×*g* 下离心 20 min 去除乳蛋白，取 1.5 mL 处理后的乳样将其置于－20 ℃冰箱中冷冻，用于测定乳尿素氮的排出量。

1.4　测定指标与方法

1.4.1　采食量

预试期内每隔 2 d 称 1 次 TMR 剩料，记录投料量（TMR 车停稳时所显示的投料量），每次在饲喂之前应先收集上次的剩料并称重，根据每次的投料量和剩料量计算每头牛的平均采食量，共记录 6 次。预试期结束后，按照 6 次采食量记录，计算出预试期内每头试验牛的平均采食量。按照同样的方法，正试期内每隔 10 d 记录 1 次试验牛采食量，共记录 6 次。正试期结束后，按照 6 次采食量记录，计算出正试期内每头试验牛的平均采食量。按照每次

的采食量记录调整下阶段的 TMR 投料量。根据正试期试验牛的平均采食量和 TMR 中的养分含量，计算试验牛的主要养分采食量。

1.4.2　MCP 产量

尿中嘌呤衍生物（PD）主要来源于瘤胃微生物嘌呤，可以通过测定尿中 PD 的含量估测出 MCP 的产量。利用比色法测定尿中尿酸和尿囊素的含量，尿中尿酸和尿囊素的含量之和即为 PD 的含量[12]。

小肠吸收外源性嘌呤数量（X）的计算公式为：

$$Y=0.85X+0.385BW^{0.75}。$$

式中:Y 为尿中嘌呤衍生物的排出量（mmol/d）；0.85 为牛肠道吸收的嘌呤转化为尿中 PD 的回收率；0.385 为当牛肠道吸收嘌呤的数量为 0 时，尿中排出内源嘌呤衍生物的数量；$BW^{0.75}$ 为动物的代谢体重。

根据以下公式计算 MCP 的产量：

$$MCP（g/d）=(6.25\times 70\times X)/（0.83\times 0.116\times 1\ 000）=6.25\times 0.727X。$$

式中：X 为小肠吸收外源性嘌呤的数量（mmol/d）；70 为每摩尔嘌呤的含氮量（mg/mol）；0.83 为微生物核酸嘌呤的消化率；0.116 为瘤胃微生物总氮中嘌呤氮的比例；6.25 为氮换算为蛋白质的平均系数。

正式期 MCP 的产量为正式期第 30 天和正式期第 60 天 MCP 产量的平均值。

1.4.3　产奶量及乳成分含量

使用利拉伐鱼骨式挤奶机挤奶，自动显示产奶量。预试期、正试期每隔 5 d 记录 1 次试验牛产奶量，每次连续记录 3 d，取平均值。

使用山东省农业科学院奶牛研究中心生产性能测定实验室的乳成分和体细胞自动分析仪（CombiFoss FT+，丹麦 Foss 公司）测定乳脂率、乳蛋白率、乳糖率及乳体细胞数，使用加权平均法计算正试期各乳成分的含量。

1.4.4　氮代谢指标

采用凯氏定氮法分析尿氮含量[10]，采用脲酶法测定尿中尿素氮含量[13]，采用苦味酸比色法测定尿肌酐含量[14]，试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。参考 Valadares 等[14]的试验方法，用尿肌酐（每头牛每天 1 kg 体重约排出 29 mg 尿肌酐）标记来测定试验牛的排尿

量。参照张丽英[10]主编的《饲料分析及饲料质量检测技术》中的检测方法，测定饲粮和粪中的粗蛋白质（CP）含量。

氮代谢指标计算公式如下：

粪氮（g/d）=日排氮量×粪中 CP 的含量×0.16；

乳氮（g/d）=产奶量×乳蛋白率×0.16；

可消化氮（g/d）=饲粮食入氮－粪氮；

氮总排出量（g/d）=粪氮+尿氮；

氮表现消化率（%）=[（饲粮食入氮－粪氮）/饲粮食入氮]×100。

1.5 数据处理与分析

使用 Excel 2016 软件对试验数据进行初步处理。使用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析，Duncan 氏法多重比较检验组间差异显著性，以 P<0.05 和 P<0.01 分别表示差异显著和极显著，结果以平均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 RPMet 添加水平对奶牛主要养分采食量的影响

由表 2 可知，饲粮中添加 RPMet 后对干物质及其他养分的采食量影响比较小。

表 2 RPMet 添加水平对奶牛主要养分采食量的影响

Table 2 Effects of supplemental level of RPMet on main nutrient intake of dairy cows kg/d

项目 Items	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2	试验 3 组 Test group 3
干物质 DM	21.28	21.43	21.60	21.51
粗蛋白质 CP	3.39	3.41	3.44	3.43
中性洗涤纤维 NDF	9.71	9.78	9.85	9.81
酸性洗涤纤维 ADF	4.61	4.65	4.68	4.66
钙 Ca	0.17	0.17	0.17	0.17
磷 P	0.08	0.08	0.08	0.08

2.2 RPMet 添加水平对奶牛瘤胃 MCP 产量的影响

由表 3 可知，各试验组尿酸和尿囊素的排出量均极显著高于对照组（P<0.01），其中试验 2 组显著高于试验 1 组（P<0.05），这 2 组与试验 3 组差异不显著（P>0.05）；各试验组嘌呤衍生物排出量均极显著高于对照组（P<0.01），其中试验 2 组显著高于试验 1 组（P<0.05），这 2 组与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05）；在 MCP 产量方面，各试验组均极显著高于对

照组（P<0.01），其中试验 2 组显著高于试验 1 组（P<0.05），这 2 组与试验 3 组之间差异不显著（P>0.05），试验 1 组、2 组、3 组的瘤胃 MCP 产量与对照组相比分别提高了 13.10%、20.45%、16.23%。

表 3　RPMet 添加水平对奶牛瘤胃微生物蛋白产量的影响

Table 3　Effects of supplemental level of RPMet on ruminal MCP production of dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2	试验 3 组 Test group 3
尿酸 Uric acid/(mmol/d)	32.13±0.79^{Bc}	42.54±1.25^{Ab}	50.19±0.72^{Aa}	44.82±3.27^{Aab}
尿囊素 Allantoin/(mmol/d)	271.50±3.40^{Bc}	297.97±3.56^{Ab}	312.23±3.64^{Aa}	304.60±2.12^{Aab}
嘌呤衍生物 PD/(mmol/d)	303.65±3.69^{Bc}	340.51±4.96^{Ab}	362.44±4.54^{Aa}	349.44±5.64^{Aab}
微生物蛋白产量 MCP production/(g/d)	1 362.02±22.06^{Bc}	1 540.41±30.36^{Ab}	1 640.57±33.63^{Aa}	1 583.13±29.20^{Aab}

同行数据，若肩标为不同的小写字母则表示差异显著（P<0.05），不同的大写字母则表示差异极显著（P<0.01），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), with different capital letter superscripts mean extremely significant difference (P<0.01), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

2.3　RPMet 添加水平对奶牛产奶量及乳成分的影响

由表 4 可知，预试期产奶量及各乳成分指标组间无显著差异（P>0.05）。正试期，试验 2 组和 3 组的产奶量极显著高于对照组（P<0.01），试验 1 组产奶量显著高于对照组（P<0.05），各试验组之间均无显著差异（P>0.05），试验 1 组、2 组、3 组与对照组相比分别提高了 8.12%、13.32%、10.32%。在乳脂率方面，试验 2 组和 3 组极显著高于对照组（P<0.01），试验 1 组显著高于对照组（P<0.05），其中试验 2 组极显著高于试验 1 组（P<0.01），而试验 3 组与试验 1 组和 2 组之间均差异不显著（P>0.05）；在乳蛋白率方面，各试验组均极显著高于对照组（P<0.01），其中试验 2 组极显著高于试验 1 组（P<0.01），这 2 组与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05）；在乳糖率方面，各试验组与对照组之间均无显著差异（P>0.05）；在乳体细胞数方面，试验 2 组和 3 组极显著低于对照组（P<0.01），其中试验 2 组显著低于试验 1 组（P<0.05），与试验 3 组之间差异不显著（P>0.05），试验 1 组显著低于对照组（P<0.05），与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05）。

表 4　RPMet 添加水平对奶牛产奶量及乳成分的影响

Table 4 Effects of supplemental level of RPMet on milk yield and milk composition of dairy cows

项目 Items	时间 Time	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2	试验 3 组 Test group 3
产奶量	预试期 Preliminary trial period	27.96±0.65	28.06±0.72	28.04±0.79	27.94±0.58
Milk yield/(kg/d)	正试期 Trial period	28.24±0.53^{Bb}	30.54±0.29^{ABa}	32.01±0.32^{Aa}	31.15±0.87^{Aa}
乳脂率	预试期 Preliminary trial period	3.41±0.05	3.44±0.04	3.43±0.06	3.40±0.05
Milk fat percentage/%	正试期 Trial period	3.43±0.05^{Cc}	3.59±0.05^{BCb}	3.88±0.06^{Aa}	3.74±0.05^{ABab}
乳蛋白率	预试期 Preliminary trial period	3.26±0.03	3.28±0.03	3.27±0.04	3.24±0.02
Milk protein percentage/%	正试期 Trial period	3.27±0.03^{Cc}	3.51±0.04^{Bb}	3.72±0.03^{Aa}	3.62±0.05^{ABab}
乳糖率	预试期 Preliminary trial period	5.17±0.05	5.21±0.02	5.19±0.06	5.25±0.03
Milk lactose percentage/%	正试期 Trial period	5.19±0.05	5.26±0.01	5.25±0.03	5.29±0.05
乳体细胞数	预试期 Preliminary trial period	155.17±3.19	154.57±4.85	155.78±3.76	153.72±2.48
Milk somatic cell counts/(10^3 个/mL)	正试期 Trial period	156.75±2.11^{Aa}	144.42±3.71^{ABb}	130.67±1.26^{Bc}	137.29±5.56^{Bbc}

2.4 RPMet 添加水平对奶牛氮素表现消化率及氮排泄的影响

由表 5 可知，各试验组食入氮与对照组之间无显著差异（P>0.05）；从粪氮排出量方面来看，试验 2 组和 3 组极显著低于对照组（P<0.01），显著低于试验 1 组（P<0.05），而试验 2 组和 3 组间差异不显著（P>0.05），试验 1 组显著低于对照组（P<0.05）；在尿氮排出量方面，各试验组均极显著低于对照组（P<0.01），其中试验 2 组极显著低于试验 1 组（P<0.01），与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05）；在乳氮排出量方面，各试验组均极显著高于对照组（P<0.01），其中试验 2 组极显著高于试验 1 组（P<0.01），与试验 3 组之间差异不显著（P>0.05）；在乳尿素氮排出量方面，试验 2 组极显著低于对照组（P<0.01），显著低于试验 1 组（P<0.05），与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05），试验 3 组显著低于对照组（P<0.05），与试验 1 组差异不显著（P>0.05），试验 1 组与对照组之间无显著差异（P>0.05）；试验 1 组、2 组、3 组的氮总排出量与对照组分别降低了 8.55%、17.49%、13.25%，各试验组均极显著低于对照组（P<0.01），其中试验 2 组极显著低于试验 1 组（P<0.01），与试验 3 组之间差异不显著（P>0.05），试验 3 组显著低于试验 1 组（P<0.05）；从可消化氮方面来看，试验 2 组和 3 组极显著高于对照组（P<0.01），其中试验 2 组显著高于试验 1 组（P<0.05），与试验 3 组之间差异不显著（P>0.05），试验 1 组显著高于对照组（P<0.05），与试验 3 组之间无显著差异（P>0.05）；在氮表观消化率方面，试验 2 组和 3 组均极显著高于对照组（P<0.01），显著高于试验 1 组（P<0.05），而试验 2 组和 3 组之间无显著差异（P>0.05），试验 1 组显著高于对照组（P<0.05）。

表 5　RPMet 添加水平对氮排泄的影响

Table 5　Effects of supplemental level of RPMet on nitrogen excretion of dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2	试验 3 组 Test group 3
食入氮 Intake N/（g/d）	534.21±3.52	538.01±4.07	541.10±4.10	539.39±3.55
粪氮 Feces N/（g/d）	179.73±2.27^{Aa}	169.81±2.31^{ABb}	158.01±3.36^{Bc}	160.70±2.49^{Bc}
尿氮 Urine N/（g/d）	219.13±3.14^{Aa}	194.96±3.92^{Bb}	171.10±6.24^{Cc}	185.31±5.29^{BCbc}
乳氮 Milk N/（g/d）	147.62±1.60^{Cc}	171.34±2.52^{Bb}	190.50±5.78^{Aa}	180.40±2.00^{ABab}
乳尿素氮 MUN/（mg/dL）	16.79±0.40^{Aa}	16.04±0.81^{ABab}	13.82±0.52^{Bc}	14.84±0.47^{ABbc}
可消化氮 Digestible N/（g/d）	354.49±1.29^{Bc}	368.21±4.65^{ABb}	383.08±3.95^{Aa}	378.68±2.55^{Aab}
氮总排出量 N excretion（g/d）	398.86±1.64^{Aa}	364.77±5.82^{Bb}	329.11±3.82^{Cc}	346.02±7.65^{BCc}
氮表观消化率 N apparent digestibility/%	66.36±0.21^{Bc}	68.44±0.66^{ABb}	70.80±0.67^{Aa}	70.21±0.36^{Aa}

3　讨　论

3.1　RPMet 添加水平对奶牛主要营养物质采食量的影响

武安泉等[15]研究表明，瘤胃投注 RPMet（N-乙酰-*DL*-蛋氨酸）对绵羊干物质采食量影响差异不显著。邹彩霞等[16]研究发现，饲粮中添加 RPMet 对泌乳水牛的干物质采食量没有显著影响。杨维仁[17]在瘤胃投饲不同形式的蛋氨酸试验结果表明，投饲动物油包被蛋氨酸可以显著提高试验肉牛的氮沉积以及氮表观消化率。饲粮中添加 RPMet 后增加了十二指肠中蛋氨酸的含量，有效降低了尿中尿素氮的含量以及尿氮的损失，进而提高了饲粮中氮的沉积率和利用率。这些前人研究与本试验的饲粮中添加 RPMet 对奶牛的采食量没有显著影响，可以显著提高奶牛氮表观消化率，降低奶牛氮排泄的结果相似。

3.2　RPMet 添加水平对奶牛瘤胃 MCP 产量的影响

MCP 提供了反刍动物 60%～70%的蛋白质需要量，是反刍动物最主要的氮源，其产量不仅反映了微生物对氮的利用效率，还间接反映了瘤胃微生物菌群的数量。Berthiaume 等[18]使用硬脂酸包被的蛋氨酸饲喂非泌乳荷斯坦奶牛结果表明，试验组十二指肠氨氮与对照组相比降低了 6%，MCP 的流量增加了 38%，十二指肠食糜中蛋氨酸的含量增加了 50%。高红建[19]研究发现，在绵羊饲粮中添加 RPMet 可以促使瘤胃微生物活动增强，对 NH_3-N 的利用率增加，进而提高了瘤胃 MCP 的产量。本试验结果表明，在饲粮中添加 RPMet，可以显著提高奶牛瘤胃 MCP 产量，与上述研究结果相符。RPMet 在瘤胃中能合理兼顾促瘤胃性和过瘤胃性 2 特征，即绝大部分能够安全通过瘤胃，而在瘤胃后消化道中又能迅速有效释放，并能以生物学可利用的方式被吸收，少量游离出来的蛋氨酸则用以改善瘤胃内环境，促进瘤胃

微生物的生长与繁殖[20]。熊春梅[21]研究表明，在反刍动物饲粮中添加或者瘤胃投饲 N-羟甲基蛋氨酸钙（N-HMM-Ca），可以满足瘤胃微生物对蛋氨酸的需要，提高了 NH_3-N 的利用率，促使瘤胃 MCP 合成增加。韩占强等[8]也发现饲粮中添加 RPMet 可以显著降低 NH_3-N 的浓度。瘤胃液中 NH_3-N 浓度的显著降低，说明 RPMet 提高了瘤胃微生物对 NH_3-N 的利用率，瘤胃 MCP 合成增加。

3.3 RPMet 添加水平对奶牛产奶量及乳成分的影响

韩兆玉等[22]研究表明，夏季在奶牛饲粮中添加 12 g/d RPMet，可以提高奶牛的产奶量、乳脂率、乳蛋白率和乳糖率，降低奶牛的乳体细胞数。邹阿玲等[5]研究发现，在奶牛饲粮中添加 RPMet 可以显著提高泌乳早期奶牛的产奶量和乳蛋白率，可以提高乳脂率。奶牛处在泌乳高峰期时乳蛋白率普遍较低，主要是由于奶牛在泌乳初期干物质采食量的增加低于产奶量的上升，导致奶牛处于营养负平衡[23]。如果直接在饲粮中添加蛋氨酸，则会被瘤胃微生物所降解，能够到达小肠被吸收利用的蛋氨酸数量很少，最终失去了添加的意义。因此，可以在泌乳早期奶牛饲粮中添加 RPMet，增加小肠可吸收蛋氨酸的数量，提高蛋氨酸的利用率。蛋氨酸不仅可以作为合成蛋白质的原料，还可以提供甲基基团促进脂蛋白的合成，而脂蛋白能够加速肝中合成的血浆三酰甘油（TG）向乳腺转运。此外，RPMet 中还含有一部分过瘤胃脂肪，可以为乳脂的合成提供原料。两者的共同作用下，提高了乳脂率[24]。本试验结果表明，在奶牛饲粮中添加 RPMet，能显著提高奶牛产奶量、乳脂率和乳蛋白率，显著降低了乳体细胞数。乳体细胞数是反映乳房健康状况的重要指标，乳体细胞数越高，说明奶牛患乳房炎的可能性越大，乳体细胞数降低，说明奶牛乳房的健康状况得到改善。

3.4 RPMet 添加水平对奶牛氮素表观消化率及氮排泄的影响

杨维仁[17]研究表明，在肉牛瘤胃投饲动物油包被蛋氨酸能够降低粪氮和尿氮的排出量，显著提高了可消化氮和沉积氮水平，提高了氮的利用效率。饲粮中蛋白质的利用效率主要取决于到达小肠的可吸收氨基酸的平衡，而影响小肠氨基平衡的关键因素为限制性氨基酸。蛋氨酸作为泌乳奶牛的限制性氨基酸之一，在饲粮中添加 RPMet 是平衡奶牛小肠可吸收氨基酸最有效的途径。蛋氨酸缺乏时会限制其他氨基酸的利用，不能被利用的氨基酸则以氨的形式在肝脏中经鸟氨酸循环转化为尿素，然后再经过肾脏的过滤作用随尿液排出体外。当饲粮中蛋白质水平一定时，添加适量的 RPMet 使小肠的氨基酸组成趋向平衡，有利于各种氨基

酸的利用，从而降低了尿氮的排出量[6]。谢实勇等[25]研究了包被蛋氨酸对内蒙古白绒山羊氮代谢的影响，结果表明饲粮中添加包被蛋氨酸有降低粪氮和尿氮排出量的趋势，并且能够显著提高可消化氮、沉积氮和氮表观消化率。本试验中，饲喂 RPMet 后能够显著降低粪氮和尿氮的排出量，显著提高可消化氮以及氮表观消化率。燕磊[6]研究了 RPMet 对小尾寒羊氨基酸代谢的影响，结果表明添加 RPMet 可以显著降低尿氮的排出量，有降低粪氮排出量的趋势，极显著增加了氮的沉积量。

4 结 论

在本试验条件下，饲粮中添加 RPMet 可以显著提高奶牛瘤胃 MCP 产量，减少氮排泄，提高奶牛生产性能，综合各项试验指标，RPMet 的最适添加量为 25 g/(d 头)。

参考文献：

[1] 毛成文.包被蛋氨酸和赖氨酸对肉羊氮代谢和生产性能影响研究[D].硕士学位论文.北京:中国农业大学,2004.

[2] 贾文彬,李建国,赵世芳.反刍动物过瘤胃氨基酸的研究进展[J].饲料博览,2005(12):10–12.

[3] 董贤文.过瘤胃赖氨酸、过瘤胃蛋氨酸的研发[D].硕士学位论文.重庆:西南大学,2013.

[4] 韩兆玉,王根林.奶牛过瘤胃蛋氨酸营养研究进展[J].饲料研究,2006(2):33–35.

[5] 邹阿玲,孙国军,李明强,等.过瘤胃蛋氨酸对泌乳早期奶牛生产性能的影响[J].中国奶牛,2005(2):27–29.

[6] 燕磊.瘤胃保护性蛋氨酸对小尾寒羊氨基酸代谢影响的研究[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2005.

[7] SALSBURY R L,MARVIL D K,WOODMANSEE C W,et al.Utilization of methionine and methionine hydroxy analog by rumen microorganisms *in vitro*[J].Journal of Dairy Science,1971,54(3):390–396.

[8] 韩占强,林英庭,赵发盛,等.不同过瘤胃蛋氨酸对奶牛 pH 和氨态氮的影响[J].饲料研究,2008(7):52–55.

[9] 冯仰廉,陆治年.奶牛营养需要和饲料成分[M].3 版.北京:中国农业出版社,2007:2.

[10] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].3 版.北京:中国农业大学出版社,2007:49–74.

[11] 朱雯.粗料来源对奶牛乳蛋白前体物生成与生产性能的影响与机制研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2013:39–69.

[12] CHEN X B,MATUSZEWSKI W,KOWALCZYK J.Determination of allantoin in biological,cosmetic,and pharmaceutical samples[J].Journal of AOAC International,1996,79(3):628–635.

[13] KOHN R A,FRENCH K R,RUSSEK-COHEN E.A comparison of instruments and laboratories used to measure milk urea nitrogen in bulk-tank milk samples[J].Journal of Dairy Science,2004,87(6):1848–1853.

[14] VALADARES R F D,BRODERICK G A,FILHO S C V,et al.Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives[J].Journal of Dairy Science,1999,82(12):2686–2696.

[15] 武安泉,杨开伦,雒秋江,等.瘤胃投注 N-乙酰-*DL*-蛋氨酸对绵羊瘤胃消化代谢的影响[J].草食家畜,2006(2):39–44.

[16] 邹彩霞,唐庆凤,李舒露,等.饲粮添加过瘤胃赖氨酸和过瘤胃蛋氨酸对泌乳水牛生产性能的影响[J].动物营养学报,2010,22(5):1445–1450.

[17] 杨维仁.瘤胃保护性氨基酸对肉牛消化代谢影响及适宜供给量的研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2004.

[18] BERTHIAUME R,LAPIERRE H,STEVENSON M,et al.Comparison of the *in situ* and *in vivo* intestinal disappearance of ruminally protected methionine[J].Journal of Dairy Science,2000,83(9):2049–2056.

[19] 高红建.氮-羟甲基蛋氨酸钙对绵羊瘤胃代谢及营养物质消化代谢的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2002.

[20] 段红伟.N-羟甲基蛋氨酸钙的过瘤胃效果及其对瘤胃环境和饲料养分消化的影响[D].硕士学位论文.兰州:甘肃农业大学,2000.

[21] 熊春梅.氮-羟甲基蛋氨酸钙对中国荷斯坦奶牛瘤胃代谢及生产性能的影响[D].硕士学位论文.兰州:甘肃农业大学,2004.

[22] 韩兆玉,周国波,金志红,等.过瘤胃蛋氨酸对热应激下奶牛生产性能、淋巴细胞凋亡以及相关基因的影响[J].动物营养学报,2009,21(5):665–672.

[23] 姜明鑫,杨连玉.过瘤胃胆碱和蛋氨酸对泌乳早期奶牛生产性能和健康状况影响的研究现状[J].经济动物学报,2013,17(4):228–231,235.

[24] 毕晓华,张晓明.过瘤胃保护蛋氨酸对奶牛氨基酸代谢和血液生化指标的影响[J].饲料研究,2014(21):48–53.

[25] 谢实勇,贾志海,朱晓萍,等.包被蛋氨酸对内蒙古白绒山羊氮代谢及产绒性能的影响[J].中国农业大学学报,2003,8(3):73–76.

Effects of Rumen-Protected Methionine on Ruminal Microbial Protein Production, Milk Performance and Nitrogen Excretion of Dairy Cows

ZHANG Chengxi[1] SUN Youde[2] LIU Xiwu[2] SUN Guoqiang[1*]

(1. *College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 266109, *China*; 2. *Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine of Qingdao, Qingdao* 266100, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to determine the effects of rumen-protected methionine (RPMet) on ruminal microbial protein （MCP） production, milk performance and nitrogen excretion of dairy cows. Forty Holstein lactating cows with similar age, body weight, parity, milk yield, milk composition and lactation period [(90±15) d] were randomly divided into 4 groups with 10 cows per group. The supplement level of RPMet in control and test groups 1, 2 and 3 was 0, 15, 25 and 35 g/(d·head), respectively. The pretest lasted for 15 d, and the test lasted for 60 d. The results showed as follows: 1) ruminal MCP production in test groups 1, 2 and 3 was extremely significantly increased by 13.10%, 20.45% and 16.23% compared with that in control group (P<0.01), respectively. 2) Milk yield in test groups 1, 2 and 3 was significantly increased by 8.12%, 13.32% and 10.32% compared with that in control group (P<0.05 or P<0.01), respectively; RPMet could significantly increase milk fat percentage and milk protein percentage (P<0.05 or P<0.01), and could significantly reduce milk somatic cell count (P<0.05 or P<0.01), especially test group 2 was the lowest. 3) Compared with control group, total nitrogen excretion in test

groups was extremely significantly reduced (*P*<0.01), and was reduced by 8.55%, 17.49% and 13.25% in test groups 1, 2 and 3, respectively. It can be seen that the addition of RPMet to diets can significantly increase ruminal MCP production, decrease nitrogen excretion, and improve the performance of dairy cows under the present experimental conditions. The optimal dosage of RPMet was 25 g/(d·head).

Key words: rumen-protected methionine; ruminal microbial protein; milk performance; nitrogen excretion

*Corresponding author, professor, E-mail: qdnydxsgq@126.com

（责任编辑　王智航）